

⑫公開特許公報(A)

昭54—132218

⑤Int. Cl.²
A 61 K 35/78
C 07 G 3/00

識別記号 ⑤日本分類
30 A 31

庁内整理番号 ④公開 昭和54年(1979)10月15日
6617—4C
6956—4H

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭サポニン成分の分離方法

⑯特 願 昭53—37464

⑯出 願 昭53(1978)4月1日

⑯発 明 者 松下駿

新南陽市大字富田4560番地 東

洋曹達工業株式会社内

⑯発 明 者 生重哲男

新南陽市大字富田4560番地 東

洋曹達工業株式会社内

⑯出 願 人 東洋曹達工業株式会社

新南陽市大字富田4560番地

明細書の浄書(内容に変更なし)
明 細 書

1 発明の名称

サポニン成分の分離方法

2 特許請求の範囲

(1) 充填剤を充填した充填塔にサポニン成分を含む溶液および溶離液を通液することによりサポニン成分および/またはその他の共存成分を同時あるいは各別に分離することを特徴とするサポニン成分の分離方法。

(2) 充填剤が少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5～177 μm、孔径13～10⁵ Åを有する架橋重合ゲルである特許請求の範囲第1項記載のサポニン成分の分離方法。

(3) 充填剤が多孔性担体の表面で炭素原子に水酸基が結合した化学構造をもち、少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5～177 μm、孔径13

10⁵ Åを有するシリカゲルの表面化学結合型ゲルである特許請求の範囲第1項記載のサポニン成分の分離方法。

(4) 溶離液が水を4～40%含む非水溶媒との混合液を用いる特許請求の範囲第1項乃至第3項のいずれかの項記載のサポニン成分の分離方法。

3 発明の詳細な説明

本発明は、サポニン含有液のサポニン成分および/またはその他の共存成分を液体クロマトグラフィーにて同時あるいは各別に分離することを特徴とするサポニン成分の分離方法に関する。

サポニンは60以上の科にわたる植物に見出されており、その特異的な性質において古くから和漢薬の有効成分の一つとしてよく知られている。例えばユリ科植物のハナスグの根から得られる知母(テモ)やハマビシ科植物から得られる廉薺木(ユウソウボク)は生薬として市販されている。多くのサポニンは植物の根に見出されており、ヒ

メハギ科のセネガに含まれるセネギン、同じくイトヒメハギの遠志(オンジ)に含まれるオンジサポニンや桔梗根(キキョウ)に含まれるブラテュジン^{テュ}は数種のサポニンの混合物であることも知られている。また柴胡(サイコ)に含まれるサイコサポニンや人參(ニンジン)に含まれるジンセノサイドも数種のサポニンの混合物である。

一方、植物の葉に含まれるサポニンとしてゴマノハグサ科ジキタリスのブルブレアグリコシドがあり、 θ -ストロファンチスというサポニンはストロファンツスに含まれている。従来、このようなサポニンの分離方法として溶剤分別法や薄層クロマトグラフィーが用いられている。

溶剤分別法として原料をエーテルで洗浄して樹脂や油状物を除いたのち、熱メタノールあるいは熱エタノールで抽出する。得られる粗サポニンをエーテルで洗浄して不純物を除き、あるいはクロロホルムと水との間に分配させて得られる水溶液を透析して精製する。さらに、その濃アルコール溶液からエーテルで分別的に沈殿させる方法がと

られる。しかしながら、この方法で得られるサポニンは十分純粋でなく、他の有機物や無機物を含有し、高純度のものは得られない。

一方、薄層クロマトグラフィーは、固定相にシリカゲル、ポリアミド、セルロースなどを用い、展開溶媒に酢酸エチルとローブタノールと水あるいはクロロホルムと水とメタノールの混合溶媒を用いて分離する方法がとられている。

この方法は操作に熟練を要し、かつ他成分との分離が不十分である。

以上の如くサポニン成分を分離することは困難であった。

本発明者らは、これらの欠点を改善すべく鋭意研究の結果、サポニン成分を迅速かつ簡便に再現性よく分離することができる方法を見出し、本発明を達成したものである。

すなわち、本発明は、サポニン含有液のサポニン成分および/またはその他の共存成分を液体クロマトグラフィーにて同時あるいは各別に分離する方法を提供するものである。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いる充填剤は各種の架橋剤を用いて製造された芳香族系水酸基をもつ重合ゲル、グリコール系重合ゲル、デンプン系重合ゲル、ヒドロキシポリエステルゲル等の多孔性ゲルで、例えばデンプン系ゲルの場合にはデンプン1グラム当量あたり架橋剤としてジビニルスルホン0.1-0.5gをアルカリ性下、室温 \sim 100℃で1-6時間攪拌後、通常の洗浄、分級操作により得られるゲルで少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5 \sim 177 μ 、孔径13 \sim 10⁵ Åを有する架橋重合ゲルあるいはシリカゲル等の多孔性担体にシランカップリング剤を反応させて得られる多孔性担体の表面が、炭素原子に水酸基が結合した化学構造を持ち、少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5 \sim 177 μ 、孔径13 \sim 10⁵ Åを有するシリカゲルの表面化学結合型ゲルである。

本発明におけるサポニン成分とは、植物に分布する配糖体を有する成分で、ブルブレアグリコシ

ド、 θ -ストロファンチス等のステロイドサポニン類、セネギン、オンジサポニン、ブラテュジン、サイコサポニン、ジンセノサイド等のトリテルペノイドサポニン類を挙げることができる。

本発明に用いる溶離液は、4 \sim 40容積多の水を含む非水溶媒との混合溶媒を用いるものである。該混合溶媒中、水が40容積多を越えるとサポニン成分の分離は不十分となり、4容積多未満ではサポニン成分が充填剤に吸着され、あるいは吸着されない場合であっても、分離時間が長くなり好ましくない。非水溶媒として炭素数1乃至4を有するアルコール類、アセトニトリル、アセトン、ジオキサン、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、酢酸メチルの単独あるいは、これらの混合溶媒を使用できるが、特に水とアセトニトリルの混合溶媒が好ましい。

さらに、本発明におけるクロマトグラフィーの操作条件は、カラム温度が常温 \sim 50℃、カラム圧力が1 \sim 200 kg/cm²で使用するものである。

以上詳述したように本発明により分離されたサ

特開昭54-132218(3)

ボニン成分の分離性は非常に良いため、その定量性はもちろん、分取後、溶媒を揮発させることにより、サボニン成分の分離精製をも可能とするものである。

以下、本発明を実施例により説明する。

実施例 1

薬用人参 1 kg を水でソックスレー抽出し、次に水抽出液を n-ブタノールで抽出して、n-ブタノールを蒸発し、粗サボニン 12 g を得た。

粗サボニン 5.0 g を 5 ml の水/アセトニトリル (20/80 の容量混合比をもつ) 溶媒にとかし試料液とした。

次に液体クロマトグラフ装置 (東洋曹達工業株式会社製、商品名 HLC-802UR) を用い、少なくとも 200 kg/cm^2 までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒径 5μ 、平均孔径 $25 \times 10^2 \text{ \AA}$ であるデンプン系重合ゲル (東洋曹達工業株式会社製、商品名 TSK-GEL LS-170) を $7.5 \text{ mm ID} \times 30 \text{ cm}$ のステンレスカラムに充填し、溶離液と

して水/アセトニトリル (20/80 容量混合比) 溶媒を、圧力 10 kg/cm^2 、流速 0.9 ml/min に調節して通液しておき、試料液 $100 \mu\text{L}$ を注入し分離を行った。サボニン成分 6 種は 30 分以内に完全に相互分離し、粗サボニン中のサボニン成分を簡便かつ迅速に分離することができた。第 1 図にそのクロマトグラムを示す。

比較例 1

実施例 1 において用いた試料液を、シリカゲルを支持体として、展開液にクロロホルム/メタノール/水 (65/35/10 の容量混合比) 溶媒を用いる薄層クロマトグラフィーでサボニン成分の分離を行ったところ、ジインセノサイド Rb_2 と Rc のスポットが重なり、また n-ブタノール/酢酸エチル/水 (4/1/5 の容量混合比) 溶媒を展開液とした場合でもジインセノサイド Rb_1 と Rb_2 が重なり薬用人参に含まれるサボニン成分と同時に分離することはできなかった。

実施例 2

シリカゲルの表面で炭素原子に水酸基が結合した化学構造をもち、少なくとも 200 kg/cm^2 までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒度 10μ 、平均孔径 $2 \times 10^4 \text{ \AA}$ を有するシリカゲルの表面化学結合型ゲル (東洋曹達工業株式会社製、商品名 TSK-GEL LS-450) を $7.5 \text{ mm ID} \times 60 \text{ cm}$ のステンレスカラムに充填し、圧力 50 kg/cm^2 に変えて通液する以外は実施例 1 と同様の操作で測定を行った。その結果、実施例 1 と同数のピークに分かれることを確認し、ほぼ同様の分離効果が認められた。

実施例 3

セリ科植物のミシマサイコの根から得られた柴胡に含まれているサイコサニポンを含有する粉末 2.0 g を 5 ml の水/アセトニトリル (18/82 の容量混合比) 溶媒に溶解し試料液とした。次に実施例 1 において用いた溶離液の混合比を水/アセトニトリル (18/82 の容量混合比) に変えた以外は、実施例 1 と同様の操作で測定を行った。その結果 6 つのピークが出現し、サイコサニポンは 6 種のサニポン成分を含有していることが判明した。第 2 図にそのクロマトグラムを示す。

実施例 4

実施例 2 において用いたシリカゲルの表面化学結合型ゲルを $7.5 \text{ mm ID} \times 60 \text{ cm}$ のステンレスカラムに充填し、圧力 50 kg/cm^2 に変えて通液する以外は、実施例 3 と同様の操作で測定を行った。その結果、分離に要する時間は 70 分費したが、実施例 3 と同数のピークに分かれることを確認し、ほぼ同様の分離効果が認められた。

実施例5

ユリ科の植物ハナスゲの根茎から得られた知母200gを水でソックスレー抽出し、次に水抽出液をローブタノールで抽出して、ローブタノールを蒸発し、粗サポニン2gを得た。

粗サポニン30mgを10mlの水/アセトニトリル=14/86の容量混合比をもつ溶媒にとかし試料液とした。

次に、実施例1において用いた溶離液の混合比を水/アセトニトリル(14/86容量混合比)溶媒に変えた以外は実施例1と同様の操作で測定を行った。その結果サポニン成分2種および共存成分5種の計7成分は50分以内に完全に相互分離し、粗サポニン中のサポニン成分を簡便かつ迅速に分離することができた。

実施例6

実施例5において少なくとも200kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒径10μm、平均孔径2×10²Åであるジメタクリ

レート系ゲル(東洋曹達工業株式会社製、商品名TRK-GEL LB-165)を用いた以外は実施例5と同様の操作で行った。その結果、実施例5と同数のピークに分かれることを確認し、ほぼ同様の分離効果が認められた。

実施例7

実施例5において溶離液として水/メタノール(20/80の容量混合比)溶媒を用い、圧力15kg/cm²、流速1ml/minに調節した以外は実施例5と同様の操作で行った。その結果、サポニン成分2種は完全に分離できた。

4 図面の簡単な説明

第1図および第2図は、液体クロマトグラフィーにおいて得られるサポニンおよびその他の共存成分のクロマトグラムを示すものである。

第1図は、薬用人参に含まれるサポニンおよび共存成分のクロマトグラムである。

第2図は、柴胡に含まれるサポニンおよび共存

成分のクロマトグラムである。

1	ジンセノサイド-R _{G1}
2	" -R _d
3	" -R _e
4	" -R _c
5	" -R _{b2}
6	" -R _{b1}
7	サイコサポニン A
8	" B
9	" A
10	" B
11	" C
12	" C

特許出願人 東洋曹達工業株式会社

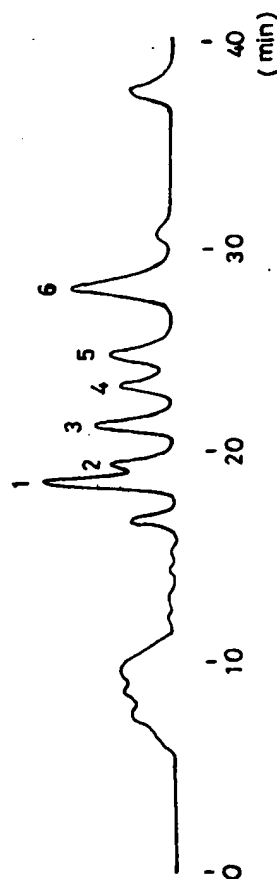


図1

BEST AVAILABLE COPY

昭和53年5月31日

特許庁長官 熊谷 善二 殿

1 事件の表示

昭和53年特許願第37464号

2 発明の名称

サポニン成分の分離方法

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 〒746 山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (330) 東洋曹達工業株式会社

代表者 青木 周吉

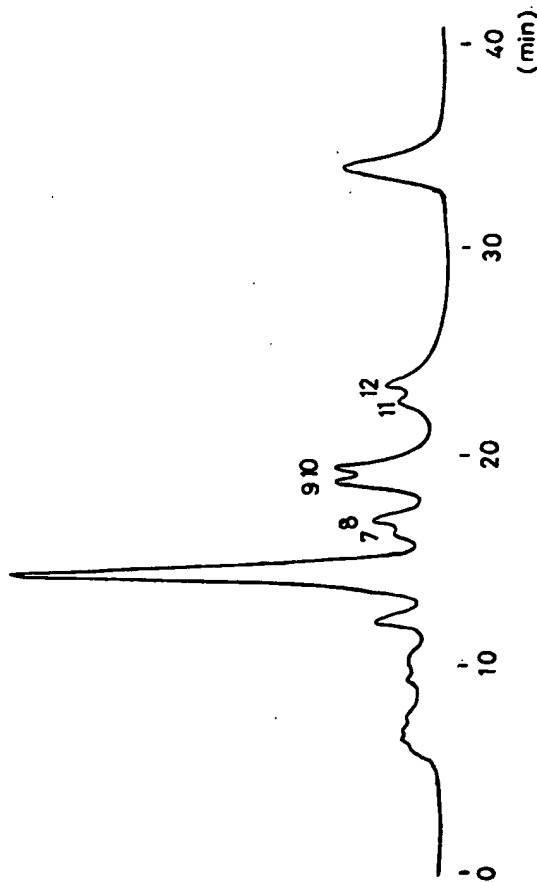
(連絡先) 〒107 東京都港区赤坂1丁目7番7号(東曹ビル)

東洋曹達工業株式会社 特許情報部

電話番号(585)3511

4 補正命令の日付 自発

5 補正により増加する発明の数 なし



第 2 図

6 補正の対象

明細書全文

(内容に変更なく、タイプ印書による明細書に
補正するもの)

7 補正の内容 別紙の通り

8 添付書類の目録

(i) タイプ印書による明細書全文

1 通

BEST AVAILABLE COPY